

UNIVERSITE DU QUEBEC

MEMOIRE PRESENTE A
UNIVERSITE DU QUEBEC A TROIS-RIVIERES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAITRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PAR
DESIREE N'DRY

ROLE DES LARVES DANS LE CHOIX DU SITE DE PONTE
CHEZ LES FEMELLES DE MOUSTIQUE *AEDES TRISERIATUS*(SAY)
(DIPTERA: CULICIDAE)

AVRIL 1988

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

RESUME

Chez la plupart des femelles de moustique, les entomologistes reconnaissent qu'il y a deux types de facteurs qui interviennent lors du choix du site de ponte: les facteurs extrinsèques (salinité, taux hydrique du sol, texture du sol, lumière, couleur du substrat et microorganismes du milieu) et les facteurs intrinsèques (oeufs, larves, nymphes et bactéries liées aux téguments). Dans le cas d'*Aedes triseriatus*, le rôle des facteurs intrinsèques avait été reconnu sans toutefois que l'on puisse l'attribuer aux stades immatures; ainsi, nous avons réalisé un élevage des populations larvaires en axénie (stérilité totale) pour démontrer que cet effet est vraiment lié à la production de phéromones par les larves. Nous avons également montré que cet effet larvaire est rémanent, que les densités larvaires jouent un rôle de régulateur de population et qu'il y a une spécificité de l'effet larve.

REMERCIEMENTS

Qu'il nous soit permis d'exprimer notre reconnaissance envers tous ceux qui, d'une façon ou d'une autre, nous ont aidé à mener à terme ce travail.

Nous adressons également notre reconnaissance au Service Québécois d'Aide aux Etudiants Etrangers (SQAEE) qui nous a permis de faire nos études au Canada et qui a fait preuve de compréhension vis-à-vis des problèmes que nous avons rencontrés au cours de la rédaction de ce travail.

Nous désirons particulièrement remercier Mr. Alain Maire, du département de chimie-biologie à l'UQTR, directeur de recherches, pour son encadrement à la réalisation de ce mémoire.

Enfin, et surtout, nous désirons remercier notre fiancé Clément Aié pour sa patience et ses encouragements durant la préparation de notre mémoire. Nous lui dédions cet ouvrage ainsi qu'à notre mère et à nos parents bien-aimés.

A tous et à chacun, notre considération et notre gratitude.

TABLE DES MATIERES

| | Pages |
|---|-------|
| RESUME | i. |
| REMERCIEMENTS | ii. |
| TABLE DES MATIERES | iii. |
| LISTE DE FIGURE ET TABLEAUX | vi. |
| CHAPITRE I | |
| INTRODUCTION | 1 |
| CHAPITRE II | |
| MATERIEL ET METHODES | 10 |
| A. Elevage de masse | 10 |
| B. Les tests d'oviposition | 12 |
| I. Y a-t-il ou non un effet lié aux larves ? | 12 |
| I.1. En conditions normales | 12 |
| I.2. En conditions de stérilité totale | 12 |
| a. Préparation du milieu axénique | 13 |
| i. Stérilisation des oeufs | 13 |
| ii. Préparation du milieu axénique | 15 |
| iii. L'élevage axénique | 17 |
| b. Test de stérilisation | 17 |
| II. Y a-t-il ou non rémanence de l'effet larve ?..... | 18 |
| II.1. Préparation d'une eau d'élevage des larves | 18 |
| III. Y a-t-il ou non un effet lié à l'âge des larves ?..... | 19 |

| | |
|--|----|
| IV. Y a-t-il ou non un effet lié à la densité des populations larvaires ?..... | 19 |
| V. Y a-t-il ou non une spécificité de l'effet larve ?..... | 20 |
| C. Choix du 4ème stade larvaire pour les expériences | 20 |
| D. Analyse statistique | 21 |
| CHAPITRE III | |
| RESULTATS | 22 |
| I. Y a-t-il un effet lié aux larves ?..... | 24 |
| I. 1 En conditions normales, après lyophilisation | 24 |
| I. 2 En conditions axéniques | 24 |
| II. L'effet larve persiste il après assèchement puis remise en eau ?..... | 26 |
| III. Y a-t-il un effet lié à l'âge des larves ? | 26 |
| IV. Y a-t-il un effet lié à la densité des populations larvaires ? | 26 |
| V. Y a-t-il une spécificité de l'effet larve ? | 27 |
| CHAPITRE IV | |
| DISCUSSION | 28 |
| I. Effet larve | 28 |
| I. 1 En conditions normales | 28 |
| I. 2 En conditions axéniques | 31 |
| II. Rémanence de l'effet larve | 31 |
| III. Age décelable par les femelles | 33 |
| IV. Rôle de la densité des populations larvaires | 34 |
| V. Spécificité de l'effet larve | 36 |

CHAPITRE V

CONCLUSIONS 39

REFERENCES 41

LISTE DE FIGURE ET TABLEAUX

Figure.

1. Limite de la répartition géographique d'*Aedes triseriatus* (Say) (Grimstad et al., 1977)P. 7

Tableaux.

1. Composition du milieu de culture axénique pour un élevage de larves de moustiques (Lang et al., 1972, avec quelques modifications)P. 16
2. Résultats du test d'oviposition concernant l'effet lié aux larves en conditions normalesP. 23
3. Résultats des tests d'oviposition après ultrafiltration à 500 PMP. 25

CHAPITRE I

INTRODUCTION

Les femelles gravides de moustique (Diptera: Culicidae), lors du choix de leur site de ponte, sont influencées par de complexes facteurs interreliés parmi lesquels on peut distinguer des facteurs extrinsèques (ou écologiques) et un ensemble de facteurs intrinsèques (ou biologiques) aux populations culicidiennes (Maire, 1983, 1984).

Ces facteurs écologiques: la couleur du substrat, le taux hydrique du sol, la salinité, la texture du sol, la lumière, les bactéries du milieu notamment, peuvent jouer un rôle positif, c'est-à-dire, attirer les femelles gravides lors du choix de leur site de ponte. Aucun cependant ne semble jouer un rôle prépondérant (Maire, 1983).

Quant aux facteurs biologiques, plusieurs entomologistes se rejoignent sur le fait que la plupart des femelles gravides sont attirées par des milieux ayant contenu ou contenant des oeufs, des larves et des nymphes (stades immatures), milieux dans lesquels les femelles vont pondre (Maire, 1984).

Toutefois, les facteurs et mécanismes qui favorisent ce comportement de ponte demeurent jusqu'ici mal connus et par ce fait, font actuellement l'objet de recherches (Maire, 1982, 1983). Ikeshoji et al. (1967), Dadd et Kleinjan (1974), Bentley et al. (1976) après avoir étudié le comportement de ponte des femelles gravides face à des milieux contenant des stades

immatures, concluent que, de tels milieux émanent des odeurs qui vont être des attractifs initiaux pour les femelles en état d'oviposition.

Les expériences ayant essayé de mettre en évidence que des phéromones sont produites chez l'un ou l'autre des stades immatures en milieu aquatique ont permis de distinguer:

1°) Le cas des *Culex*: ce sont des moustiques d'origine et à dominance sub-tropicale. Dans ce groupe, les femelles pondent leurs oeufs directement sur l'eau sous la forme d'une barquette correspondant à la ponte d'une femelle.

Rôle des oeufs chez les *Culex*

Depuis Osgood (1971) avec *C. tarsalis* (Coquillett), on sait que les oeufs ont un rôle actif chez les *Culex* et qu'il existe une phéromone associée à ces oeufs qui favorise la ponte des femelles gravides.

Bruno et Laurence (1979) ont localisé l'activité inductrice d'oviposition et l'ont attribuée à des composés attractifs constitués d'un mélange de diglycérides et d'acides gras monohydroxides provenant de la gouttelette apicale des oeufs. Ces composés de la phéromone ont été identifiés comme étant l'érythro-6-acétoxy-5-hexadecanolide (Hwang *et al.*, 1986; Laurence et Pickett, 1982).

Rôle des larves et des nymphes chez les *Culex*

En 1967, Hudson et McLintock avec *C. tarsalis* mettent en évidence que les eaux ayant contenu des larves ou des nymphes ont un effet actif sur les femelles lors de leur ponte. Ils attribuent cette activité à une substance non volatile et très stable qui serait détectée par des chémorécepteurs situés sur les pattes des femelles.

Dadd et Kleinjan (1974) attribuent l'effet actif d'une eau ayant contenu des larves de *C. pipiens* L. à un composé actif produit par ces larves qui serait stimulant lors de l'oviposition.

Andréadis (1977) étudie le rôle des nymphes dans l'oviposition chez *C. salinarius* (Coquillett) il attribue alors l'activité observée à un composé non-filtrable produit par ces nymphes.

2°) Le cas des *Aedes*: parmi ces moustiques, certains se retrouvent dans les régions boréo-tempérées (sous-genre *Ochlerotatus*). Leurs femelles pondent dans des zones humides qui plus tard vont être asséchées; pendant cette période, les oeufs sont en diapause (Munstermann et Wasmuth, 1985).

Rôle des oeufs chez les *Aedes*

Bentley et al. (1976), McDaniel et al. (1976) n'ont pas pu mettre en évidence le rôle des oeufs, si toutefois il y en a un, dans le choix du site de ponte, comme c'est le cas pour les *Culex*.

Rôle des larves et des nymphes chez les *Aedes*

Kalpage et Brust (1974) avec *Ae. atropalpus* (Coquillett) mettent en évidence qu'une eau ayant contenu des larves du 4ème stade et une autre ayant contenu des nymphes sont préférées par les femelles de cette espèce comparativement à de l'eau distillée.

Trimble et Wellington (1980) avec *Ae. taeniorhynchus* (Theobald) notent dans un premier temps, que les femelles gravides pondent plus dans une eau ayant contenu des larves (Larval Holding Water = LHW) que dans de l'eau distillée. Cette LHW est obtenue après avoir immergé des larves du 4ème stade pendant 48 heures dans de l'eau distillée, laquelle est ensuite filtrée. Par la suite, ils ont utilisé des larves du 4ème stade qu'ils ont placées dans une certaine quantité d'eau avec du kaolin, le tout incubé à 20° C pendant 12 heures. L'eau a été ensuite renouvelée et les larves laissées en incubation 12 heures de plus. Ce sont ces larves ainsi traitées qui ont servi à préparer une seconde LHW avec des larves du 4ème stade. Lorsque Trimble et Wellington présentent une telle eau aux femelles d'*Ae. taeniorhynchus*, ils constatent que ces dernières préfèrent la LHW préparée avec des larves traitées au kaolin à une LHW simple. Cette préférence est confirmée par

rapport à l'eau, car même après avoir filtré (sous vide) les bactéries d'une LHW, les femelles ont préféré pondre dans la LHW préparée avec des larves traitées au kaolin.

Ces résultats ont amené les auteurs à conclure que l'effet actif semblant lié aux larves du 4ème stade est dû soit:

- 1°) aux métabolites des bactéries produits avant que celles-ci n'aient été retirées de la LHW.
- 2°) aux métabolites produits par les bactéries adhérant au corps des larves pendant la période d'incubation.
- 3°) aux produits d'excrétion des larves.
- 4°) aux substances spécifiques produites par les larves pour la stimulation de l'oviposition.

Ainsi, ces expériences ne permettent pas de distinguer dans quelle mesure ce sont les larves ou les bactéries qui leur sont associées qui sont en cause lors de l'oviposition.

Choix du matériel biologique.

Parmi les *Aedes*, une espèce en particulier a retenu notre attention: *Ae. triseriatus* (Say). Cette espèce a été identifiée comme la principale vectrice de l'encéphalite La Crosse (Groupe des encéphalites de Californie) aux Etats-Unis: en 1963, Thompson et al., montraient que chez certains fermiers du Wisconsin, il y avait une augmentation démesurée d'anticorps contre le virus de l'encéphalite de Californie. Subséquemment, dans la

même région, le virus LaCrosse a été isolé chez un patient atteint (Thompson et al., 1965). Plusieurs études (Thompson et al., 1972) ont désigné *Ae. triseriatus* comme l'espèce vectrice la plus probable du virus qui affecte particulièrement les jeunes enfants (Watts et al., 1972). Munstermann et Wasmuth, (1985) avancent que dans les régions rurales, *Ae. triseriatus* est identifiée comme étant aussi une vectrice probable de dirofilariose chez le chien (*Dirofilaria immitis*), maladie qui se manifeste par la présence d'un ver dans le coeur de l'animal, pouvant entraîner sa mort.

Récemment, six personnes atteintes d'infections du système nerveux dues à un virus du groupe des encéphalites de Californie (SSH ou La Crosse) ont été signalées dans la province du Québec: trois en 1978 (Fauvel et al., 1980) une en 1980 (Fauvel et al., 1981) et deux en 1981 (Belloncik et al., 1983).

De plus, *Ae. triseriatus* a une écologie particulière: en effet, il sélectionne dans la nature des cavités pouvant retenir de l'eau, soit essentiellement des creux d'arbre (espèce dendrolimnique) (Jenkins et Carpenter, 1946). Ce type d'habitat constitue un milieu approprié pour les stades immatures de ce moustique. *Ae. triseriatus* est le moustique de creux d'arbre le plus abondant et le plus largement distribué dans l'est de l'Amérique du nord; elle se retrouve au sud du Québec dans le domaine de l'érablière à sucre (Zavortink, 1972; Wood et al., 1979; Maire et Aubin, 1980) (figure 1).

Bien qu'on ait ces quelques connaissances qui caractérisent *Ae. triseriatus* comme une espèce vectrice de maladies, cela n'a pas empêché

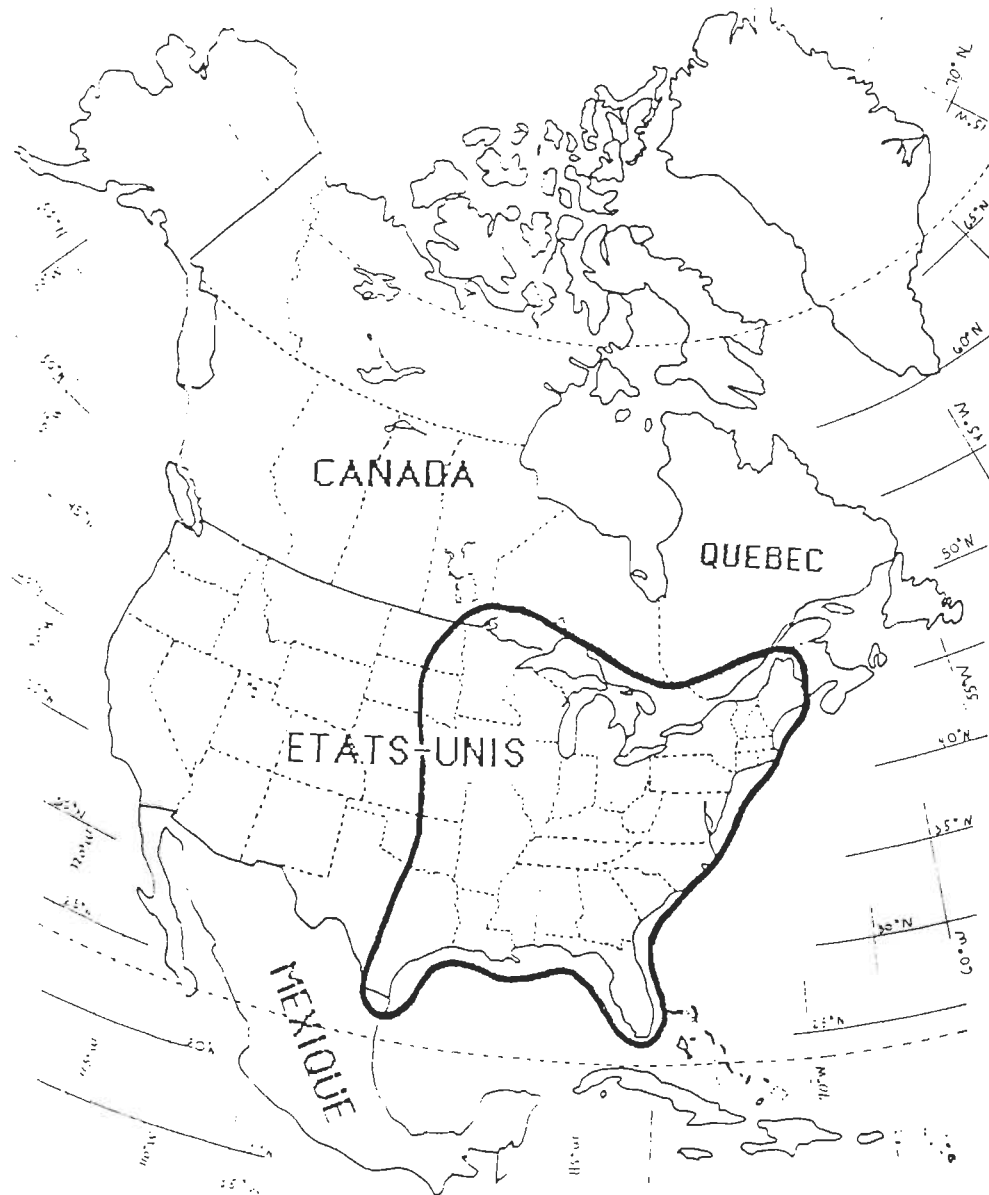


Figure 1. Limite de la répartition géographique d' *Aedes triseriatus* (Say) en Amérique du Nord. (Grimstad et al, 1977).

l'introduction de diverses sortes de contenants artificiels dans l'environnement, notamment le nombre de plus en plus considérable de pneus usagés dans la nature, qui favorise la prolifération inquiétante de cette espèce. Craig et Hickey (1967) montrent que ces pneus sont, en zone ombragée, des habitats propices pour *Ae. triseriatus* particulièrement lorsqu'ils contiennent des quantités importantes de matière organique (Munstermann et Wasmuth, 1985).

Ce sont ces faits importants (nuisance, large distribution) qui ont amené les chercheurs à effectuer des études sur *Ae. triseriatus*, quelques unes portant sur les relations qui existent entre les populations immatures vivant dans les milieux aquatiques et les populations d'adultes lors de l'oviposition (Bentley et al., 1976, 1979; McDaniel et al., 1976), afin de mieux discerner les facteurs qui interviennent entre ces populations au moment de la ponte.

Dans la présente étude, nous avons choisi d'étudier *Ae. triseriatus* chez qui nous allons tester l'effet larve dans le but de mieux comprendre comment et dans quelle mesure les stades immatures pourraient intervenir dans le choix du site d'oviposition par les femelles gravides de l'espèce. L'étude portera essentiellement sur les larves afin de déterminer si elles produisent ou non des phéromones qui vont intervenir lors de l'oviposition des femelles en les attirant (les femelles les détecteraient par olfaction) ou en les stimulant (les femelles de moustique ne les percevraient que par contact).

Cette étude nous permettra ainsi de répondre aux questions suivantes:

- 1) y a-t-il un effet lié aux larves ?
- 2) l'effet larve persiste-t-il après assèchement et remise en eau du milieu ?
- 3) y a-t-il un effet lié à l'âge des larves, décelable par les femelles ?
- 4) y a-t-il un effet lié à la densité des populations larvaires ?
- 5) y a-t-il une spécificité de l'effet larve ?

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

Ae. triseriatus a été élevé en laboratoire et développé à partir d'une souche provenant de la région de Trois-Rivières, Québec (46°18' Nord et 72°37' Ouest).

Son élevage nécessite une température optimale de 23°C pour le développement des larves et la survie des adultes. A cette température, le développement larvaire, du 1er au 4ème stade, s'effectue en 14 jours. Après ce laps de temps, les larves se transforment en nymphes et cet état dure quatre à cinq jours. Suite à cette phase nymphale intermédiaire, le stade adulte ou imago s'obtient après une autre mue. Adultes, les femelles effectuent leur première ponte après au moins une semaine. Le développement embryonnaire de ces oeufs, avant leur éclosion, s'effectue en huit jours approximativement. Ainsi le cycle de vie complet de l'espèce de l'éclosion à la ponte, dure habituellement de cinq à six semaines (Munstermann et Wasmuth, 1985).

A. Elevage de masse.

Les stades immatures d'*Ae. triseriatus* sont élevés dans des récipients remplis d'eau distillée non déminéralisée. Ils sont nourris d'une solution aqueuse de poudre de foie de porc desséché (7,5 g de poudre ; 250 ml d'eau).

Cette solution contient des éléments nutritifs (choline, acide nicotinique, riboflavine) qui favorisent le bon développement des stades immatures (Munstermann et Wasmuth, 1985).

Les nymphes sont prélevées tous les deux jours et mises dans des bocaux de Pyrex (100 * 80 cm) contenant de l'eau, placés ensuite dans des cages (30 * 30 * 37 cm) à une densité d'environ 3 000 nymphes par cage (environ 1500 mâles et 1500 femelles).

Les adultes sont maintenus sous une photopériode de 18:6 (L/D) et une humidité relative de 80 % (Munstermann et Wasmuth, 1985). Les populations d'adultes sont nourries d'une solution aqueuse de miel (2/3 d'eau ; 1/3 de miel).

Une souris est présentée dans chaque cage une fois tous les deux jours, pendant une heure, pour assurer le repas de sang qu'effectuent uniquement les femelles gravides, afin d'assurer la maturation de leurs oeufs.

Dans chacune des cages, lors des expérimentations, on place deux bocaux de Pyrex (100 * 80mm) l'un contenant la solution test (15 ml), l'autre le témoin (15 ml). On place sur la paroi intérieure de chaque bocal, une bande de papier noir (2,5 cm environ de largeur). Le choix de cette couleur est dû au fait que les travaux de plusieurs auteurs concluent que les eaux ou substrats foncés sont plus attirants pour les femelles gravides, favorisant ainsi une meilleure ponte (Wilton, 1968; McDaniel et al., 1976; Ichimori, 1981).

Les oeufs pondus (la veille) sont retirés et comptés chaque matin. Les solutions sont renouvelées également chaque matin, chaque expérience est conduite sur cinq jours pour permettre à un maximum de femelles gravides

d'effectuer leur ponte. Chaque série d'expérience débute le second jour après qu'une ponte ait été observée sur la bande de papier noir.

D. Les tests d'oviposition.

I. Y a-t-il ou non un effet lié aux larves ?

Nous testons cette hypothèse d'une part en conditions normales et d'autre part en conditions de stérilité totale.

I.1. En conditions normales.

Bentley et al. (1976, 1979) avec une LHW réalisée avec des larves du 4ème stade, reconnaissent l'effet actif des larves. Une telle expérience réalisée en conditions normales, permet de tester l'effet d'une eau ayant contenu des larves (LHW réalisée avec 300 larves du 4ème stade, par litre). Le témoin est de l'eau distillée.

I.2. En conditions de stérilité totale.

Cette expérience teste l'effet de l'activité d'une eau contenant des larves n'ayant jamais été en contact avec des bactéries ni des champignons

(conditions axéniques). Elle permet de déterminer si l'effet actif est propre aux larves (lié à une production de phéromones), ou s'il faut l'attribuer à des bactéries qui sont associées aux larves (Trimble et Wellington, 1980).

Pour ce faire, nous réalisons un élevage des populations immatures en conditions de stérilité totale (axénie). Les larves lorsqu'elles atteignent le stade 4 sont prélevées de leur milieu de culture axénique à l'aide d'une pipette Pasteur stérilisée et placées dans 500 ml d'un nouveau milieu nutritif stérile afin de réaliser, après filtration sur un filtre Whatman # 2 stérilisé, une LHW axénique qui constitue le test; le témoin est constitué d'un milieu de culture axénique sans larve.

a. Préparation du milieu axénique (selon Lang et al., 1972, avec quelques modifications).

i. Stérilisation des oeufs.

Avant la stérilisation proprement dite, les oeufs pondus sur les bandes de papier noir sont conservés dans les bocaux d'oviposition pendant une période approximative de huit jours (embryogenèse avant éclosion).

Par la suite, les oeufs sont transposés avec précaution des bandes de papier sur un tamis, avec lequel ils sont trempés pendant 3 minutes dans une boîte de Pétri contenant une solution d'hypochlorite de sodium à 2%. Ils sont ensuite rincés plusieurs fois à l'eau distillée, recueillis à l'aide d'un

coton tige dans des tubes à essai contenant 2 ml de chlorure de benzalkonium (Zéphiran) à 0,1 %. Ces tubes bouchés sont agités au "Vortex-génie" pendant 3 minutes.

Les oeufs sont retirés à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et lavés trois fois consécutives dans des tubes contenant des tampons de phosphate de sodium à pH 6.5 (Madigosky et al., 1980)

Chaque tube est agité pendant 15 secondes au Vortex. Les oeufs ainsi stérilisés sont placés sur des rondelles de papier blanc contenues dans des boîtes de Pétri (matériel préalablement stérilisé par autoclave). Ces boîtes sont scellées avec du ruban adhésif et gardées approximativement pendant une semaine.

Après ce laps de temps, les oeufs sont recueillis et placés dans des tubes à essai stérilisés contenant du Zéphiran et agités 10 secondes au Vortex. Les oeufs commencent à éclore dès le premier bain et virtuellement de jeunes larves éclosent.

Au cours de ces opérations, approximativement 5 000 oeufs sont stérilisés. Tout le matériel utilisé est stérilisé par autoclave et les opérations se réalisent sous une hotte à flux laminaire préalablement irradiée avec une lumière U.V. pendant au moins 20 minutes.

ii. Préparation du milieu axénique

Le milieu de culture est constitué de deux types de solutions: la solution A qui contient des minéraux, de l'albumine d'oeuf et du cholestérol; la solution B renferme des vitamines, du tampon et de l'ARN (Tableau 1).

Pour chaque solution, nous utilisons une fiole stérilisée jaugée à 1000 ml dans laquelle on met 500 ml d'eau distillée stérilisée.

Les éléments de la solution A, à savoir: 40 ml des éléments 1, 8 ml de cholestérol et 43 ml d'albumine sont complétés à 1 000 ml avec de l'eau distillée stérilisée. Cette solution est transvasée en quantité égale dans quatre flacons de culture (en Pyrex) de 2 500 ml (permettant la croissance d'un grand nombre de larves).

Pour la solution B, on utilise quatre ballons stérilisés de 1 000 ml, chacun contenant 250 ml d'eau distillée stérilisée à laquelle on ajoute les éléments de la solution B: 32 ml de 4, 32 ml de 5; 80 ml de riboflavine; 8 ml d'acide folique; 80 ml de 8; 33 ml de ARN.

Les flacons de culture et les ballons soigneusement fermés à l'aide de ouate et de papier aluminium, sont autoclavés pendant 20 minutes à 121°C.

Par la suite, une égale quantité de solution B est versée dans la solution A juste avant de procéder à l'élevage axénique. Ce mélange constitue le milieu de culture.

Tableau 1

Composition du milieu de culture axénique pour un élevage de larves de moustique (Lang *et al.*, 1972, avec quelques modifications).

| Solutions | Quantité | Solvant | Quantité/50 tubes |
|--------------------------------------|----------|------------------------------------|-------------------|
| Solution A | | | |
| 1. NaCl | 300 mg | 250 ml H ₂ O | 2,5 ml |
| MgSO ₄ .H ₂ O | 2,5 g | | |
| FeSO ₄ .7H ₂ O | 300 mg | | |
| MnSO ₄ .H ₂ O | 200 mg | | |
| CaCl ₂ .2H ₂ O | 397 mg | | |
| ZnCl ₂ | 25 mg | | |
| 2. Cholestérol | 45 mg | 15 ml éthanol | 0,5 ml |
| 3. Albumine | 7,5 g | 250 ml H ₂ O | 2,67 ml |
| Solution B. | | | |
| 4. Pentothénate de Ca. | 125 mg | 200 ml H ₂ O | 2 ml |
| HCl Pyridoxine | 50 mg | 25% éthanol | |
| 5. Thiamine | 62,5mg | 500 ml 0,02 N Acide acétique | 5 ml |
| Biotine | 6,25ml | | |
| Nicotinamide | 312 mg | | |
| Choline.Cl | 3,13 g | | |
| 6. Riboflavine | 200 mg | 500 ml | 12,5 ml |
| 7. Acide folique | 30 mg | 100 ml 1,0 N NaHCO ₃ | 1 ml |
| 8. K ₂ HPO ₄ | 3 g | 100 ml pH 6,5 | 5 ml |
| KH ₂ PO ₄ | 3 g | | |
| 9. ARN (sodium) | 16,9 ml | 2000 ml | 2000 mg équival. |

iii. L'élevage axénique.

Les larves du 1er stade obtenues à la suite de la phase de stérilisation des oeufs sont précautionneusement transférées à l'aide d'une pipette Pasteur dans les flacons de culture contenant chacun 500 ml de milieu de culture. La densité larvaire est d'environ 300 larves par 500 ml. Des flacons contenant uniquement le milieu de culture servent de témoin.

L'élevage axénique des moustiques s'accomplit en deux semaines approximativement, du 1er stade au 4ème stade larvaire. La vérification du stade de développement peut ainsi se faire à tout moment.

b. Test de stérilisation.

Lorsque les solutions A et B sont mélangées le milieu de culture est composé de deux phases: au fond du flacon de culture, un précipité blanc dû à l'albumine autoclavé et en surface, une solution de coloration jaune pâle. Tout contenant trouble après quelques jours, est considéré comme non-axénique et est rejeté.

Une fois la technique bien assimilée, le taux de réussite d'une culture axénique est d'au moins 50 %.

II. Y a-t-il ou non rémanence de l'effet larve ?

Cette expérience permet de déterminer si l'activité d'une eau d'élevage des larves (Larval Rearing Water = LRW), lyophilisée et remise en eau, persiste. Elle nous permet ainsi de préciser si les substances émises par les larves sont volatiles ou non.

Pour la réalisation de cette deuxième expérience, les lyophilisats obtenus (réfrigération sous vide à - 50° C) de la LRW sont submergés avec une quantité d'eau distillée correspondant à la quantité de LRW utilisée au départ; c'est l'activité de cette eau qui est testée. De l'eau distillée lyophilisée et remise en eau sert de témoin.

II.1. Préparation d'une eau d'élevage des larves

(Larval Rearing Water = LRW)

Dès éclosion des larves, 300 d'entre elles sont placées dans 1 litre d'eau distillée non déminéralisée pendant 13 jours (ce qui correspond approximativement au stade 4). Les larves sont ensuite enlevées par filtration; la LRW ainsi obtenue est réfrigérée, jusqu'à utilisation.

III. Y a-t-il ou non un effet lié à l'âge des larves, décelable par les femelles ?

Cette expérience consiste à tester des LRW respectivement réalisées avec des larves du 2, 3 ou 4ème-stade, afin de pouvoir déterminer s'il existe un effet de l'âge et si oui, à partir de quel stade cet effet serait décelé par les femelles? Les témoins sont constitués d'une eau distillée.

La préparation de ces LRW, se fait de la même façon que précédemment, mais dans ces cas, c'est la durée d'immersion des larves, à partir de l'éclosion, dans l'eau distillée qui est importante. Ainsi, cette immersion durera 6, 9 ou 13 jours (ce qui correspond approximativement aux stades 2, 3 et 4) selon le stade que l'on veut tester.

IV. Y a-t-il ou non un effet lié à la densité des populations larvaires ?

Cette expérience permet de déterminer si la densité larvaire joue un rôle sur le comportement des femelles gravides lors de la ponte et si oui, comment ?

L'expérience teste l'effet de l'activité d'une LHW à différentes densités larvaires, soient 300 larves par litre, 600 larves par litre et 750 larves par litre, 300 larves par litre étant considérée comme une densité optimale dans nos expérimentations. Afin de savoir s'il y avait un effet ou non de la densité et comment agissait une densité supraoptimale sur les femelles, nous avons choisi une densité de 600 larves par litre. Par la

suite, nous avons testé une densité supérieure à la densité supraoptimale, afin d'étudier le comportement des femelles face à une telle densité. Ces solutions sont les tests, chaque LHW est réalisée avec des larves du 4ème stade; les témoins sont de l'eau distillée.

V. Y a-t-il ou non une spécificité de l'effet larve ?

Cette expérience permet de déterminer si le choix du site de ponte qu'effectuent les femelles est spécifique, c'est-à-dire, si elles sont capables ou non, et dans quelle mesure de reconnaître un site ayant contenu leurs propres larves.

Nous testons l'effet de l'activité de deux LRW axéniques filtrées sur Whatman # 2 stérilisé, l'une réalisée avec des larves d'*Ae. triseriatus* (300 larves par litre, larves du 4ème stade) et l'autre avec des larves d'*Ae. atrapaipus* (espèce qui colonise des creux de rocher) (300 larves par litre, larves du 4ème stade). *Ae. atrapaipus* est élevée dans les laboratoires du Groupe de Recherche des Insectes Piqueurs (GRIP) de l'Université du Québec à Trois-Rivières.

C. Choix du 4ème stade larvaire pour les expériences.

Dans la plupart des expérimentations, on peut remarquer que les larves avec lesquelles les tests ont été effectués sont du 4ème stade (sauf

lorsque l'on teste l'âge, où en plus du 4ème stade, les 2ème et 3ème stades sont utilisés). Le choix de ce stade larvaire résulte non seulement des travaux de Maire (1985) avec *Ae. atropalpus*, qui mettent en évidence que le 4ème stade est l'âge où les larves de cette espèce produisent des substances attractives en plus grande quantité, mais également, du fait que la plupart des auteurs dans le domaine travaillent avec des larves du 4ème stade ou des nymphes.

D. Analyse statistique.

Pour ces séries d'expérimentations, cinq cages ont été utilisées pour s'assurer d'un nombre de degrés de liberté suffisant afin d'avoir une meilleure précision lors de l'analyse statistique. Il faut néanmoins noter que les résultats obtenus à partir de trois cages sont acceptables.

Pour chacune des expériences, c'est uniquement la réponse de l'oviposition concrétisée par le nombre d'oeufs pondus par les femelles gravides qui est mesurée et non le comportement des femelles lors de

Le nombre d'oeufs pondus par les femelles est exprimé en pourcentage, puis transformé en arcsinus (normalisation de la distribution des données); ces résultats transformés seront traités statistiquement à partir des valeurs du t de la loi de Student.

CHAPITRE III

RESULTATS

Dans toutes nos expérimentations, nous avons décidé que si dans certaines cages, il y avait moins de 150 oeufs pondus par les femelles, ces cages seraient rejetées car un tel nombre indique qu'à peine deux femelles sur 1500 ont pondu, ces résultats sont alors trop peu représentatifs pour être retenus.

Les résultats de la première expérience (effet larve en conditions normales) sont présentés dans le tableau 2. Dans cette expérience, seules trois cages ont été utilisées.

Au cours de ce test, les résultats obtenus ($t = 2,02$; $0,1 < p < 0,2$) montrent que les femelles gravides, lorsqu'elles ont la possibilité d'effectuer un choix entre une LHW normale et une eau distillée, ne font pas de différence entre ces deux milieux.

Ces résultats, lorsque l'on sait que Bentley et al. (1976, 1979) ont reconnu l'effet larve chez *Ae. triseriatus*, nous ont amené à vérifier si on ne commettait pas une erreur du type B (ne pas rejeter H_0 / H_0 est fausse). Pour cette raison, toutes les solutions ont été en quelque sorte "purifiées" par ultrafiltration à 500 PM; cette dernière technique va aider les femelles gravides à mieux déceler les substances présentes dans la solution à tester.

Aussi, afin de poursuivre les expériences nous avons pris la précaution d'avoir dans les cages expérimentales des cohortes de femelles du même

Tableau 2

Résultats du test d'oviposition concernant l'effet lié aux larves en conditions normales.

| Expé- rience | nombre de cages | contenu des bocaux de ponte | moyenne du nombre d'oeufs | moyenne de arcsinus \pm écart-type | valeurs de \underline{t} | p |
|-----------------|-----------------------|-----------------------------------|---------------------------------|--|----------------------------------|-----------------------|
| 1 | 3 | LHW normale | 687 | 56,36 \pm 5,80 | | |
| | | eau distillée | 337 | 33,44 \pm 5,56 | 2,02 | 0,1 < p < 0,2 (NS) |

(NS) = non significatif.

âge, ceci en recueillant un certain nombre de larves dès éclosion et en les mettant dans des récipients distincts des autres afin de pouvoir bien suivre les étapes de développement.

Après toute cette série de précautions, les expériences ont été reprises et poursuivies et leurs résultats sont présentés dans le tableau 3.

Il y-a-t-il un effet lié aux larves ?

1.1. En conditions normales, après lyophilisation.

Dans cette expérience, il y a une différence significative du nombre d'oeufs pondus dans les différents bocaux, plus de 59 % des 3496 oeufs ont été pondus dans la LHW ($t = 4,45$; $0,02 < p < 0,05$).

1.2. En conditions axéniques

On note que la LHW axénique est préférée significativement par les femelles gravides d' *Ae. triseriatus* ($t = 2,94$; $0,02 < p < 0,05$), ceci quand un milieu axénique sans larve leur est présenté simultanément.

Tableau 3

Résultats des tests d'oviposition après ultrafiltration à 500 PM.

| Expé- rien- ces. | nombre de cages | contenu des bocaux de ponte | moyenne du nombre d'oeufs | moyenne de arcsinus \pm écart-type | valeur de t | p |
|------------------------|-----------------------|--|---------------------------------|--|-------------------|-------------------------|
| 1 | 4 | LHW normale eau distillée | 2284 1212 | 50,2 \pm 1,43 40 \pm 0,87 | 4,45 | 0,02 < p < 0,05 (*) |
| | 5 | LHW axénique mil.axénique | 2743 1434 | 54,1 \pm 3,11 35,9 \pm 3,11 | 2,94 | 0,02 < p < 0,05 (*) |
| 2 | 5 | LRW stade 4 eau distillée | 647 276 | 56,48 \pm 2,01 33,51 \pm 2,01 | 5,69 | 0,002 < p < 0,005 (**) |
| 3 | 5 | LRW stade 2 eau distillée | 2339 2350 | 44,41 \pm 4,15 45,59 \pm 4,15 | 0,14 | p > 0,5 (NS) |
| | 5 | LRW stade 3 eau distillée | 802 684 | 47,49 \pm 0,76 42,50 \pm 0,76 | 3,29 | 0,02 < p < 0,05 (*) |
| | 5 | LRW stade 4 eau distillée | 647 276 | 56,48 \pm 2,01 33,51 \pm 2,01 | 5,69 | 0,002 < p < 0,005 (**) |
| 4 | 5 | LHW(300) eau distillée | 2311 1280 | 53,61 \pm 2,94 36,33 \pm 2,94 | 2,94 | 0,02 < p < 0,05 (*) |
| | 4 | LHW(600) eau distillée | 1156 556 | 54,75 \pm 2,95 35,24 \pm 2,95 | 3,31 | 0,02 < p < 0,05 (*) |
| | 5 | LHW(750) eau distillée | 667 1162 | 37,21 \pm 17,43 52,77 \pm 7,96 | 7,81 | 0,001 < p < 0,002 (***) |
| 5 | 4 | LRW axénique <i>Ae. trise.</i> vs LRW axénique <i>Ae. strop.</i> | 1704 772 | 55,58 \pm 2,45 34,41 \pm 2,45 | 4,02 | 0,01 < p < 0,02 (*) |

NS = non significatif

(*) = significatif à 0,05

(**) = significatif à 0,001

(***) = hautement significatif < 0,001.

II. L'effet larve persiste-il après assèchement puis remise en eau du milieu?

Dans cette expérience, la LRW lyophilisée et remise en eau, par rapport à de l'eau distillée lyophilisée et également remise en eau, est significativement préférée par les femelles gravides ($t = 5,69$; $0,002 < p < 0,005$).

III. Y a-t-il un effet lié à l'âge des larves, décelable par les femelles ?

Dans cette série d'expériences, lorsqu'on présente aux femelles d'*Ae. triseriatus* une LRW réalisée avec des larves du 2ème stade et de l'eau, on note que 49 % des oeufs sont pondus dans la LRW ($t = 0,14$; $p > 0,5$). Mais pour des LRW respectivement du 3ème et du 4ème stade par rapport à l'eau distillée, ce sont les LRW qui sont significativement préférées par les femelles ($t = 3,29$; $0,02 < p < 0,05$ et $t = 5,69$; $0,002 < p < 0,005$ respectivement).

IV. Y a-t-il un effet lié à la densité des populations larvaires ?

Les femelles pondent plus d'oeufs dans des LHW de faible densité larvaire ($t = 2,94$; $0,02 < p < 0,05$ pour une LHW avec 300 larves par litre et $t = 3,31$; $0,02 < p < 0,05$ pour une LHW avec 600 larves par litre). Lorsque

cette densité est de 750 larves par litre on note alors que les femelles pondent plus de 63 % des 1829 oeufs dans l'eau distillée ($t = 7,81$; $0,001 < p < 0,002$).

V. Y a-t-il une spécificité de l'effet larve ?

Dans cette expérience, pour des LRW axéniques d'*Ae. triseriatus* et d'*Ae. atropalpus*, on note que la LRW axénique d'*Ae. triseriatus* est significativement préférée par les femelles de cette même espèce ($t = 4,02$; $0,01 < p < 0,02$).

CHAPITRE IV

DISCUSSION

1. Effet larve

1.1. En conditions normales

Il faut noter que le rôle d'une eau ayant contenu des larves a déjà été reconnu chez certaines espèces testées d'*Aedes*.

Kalpage et Brust (1974) ont testé l'effet des larves chez *Ae. atropalpus*. Ils ont réalisé une LHW avec des larves du 4ème stade et ils notent que cette solution est préférée au témoin (eau distillée). Ils en concluent que les femelles sont capables de reconnaître des substances attractives, stables dans une LHW et d'y pondre. Ils réalisent une autre série d'expériences avec une "eau d'émergence" des nymphes (Emergence Water = EW) obtenue après avoir lavé plusieurs fois des nymphes avec de l'eau distillée, et une eau ayant contenu des nymphes (Pupal Holding Water = PHW) recueillie puis filtrée, après que les nymphes aient séjournées pendant 24 heures dans de l'eau distillée. Les résultats de ces expériences montrent que les femelles d'*Ae. atropalpus* ne font pas de différence entre une LHW et une EW d'une part et d'autre part, entre une LHW et une PHW. Kalpage et Brust mentionnent que dans la nature, ce comportement observé en laboratoire chez cette espèce, est similaire. Soman et Reuben (1970) réalisent une série d'expériences avec *Ae. aegypti* et ils concluent que les femelles de

cette espèce préfèrent pondre dans des eaux ayant contenu les stades immatures de leur propre espèce.

Toutefois, Ahmadi et McClelland (1983), réalisent une série d'expériences avec *Ae. sierrensis* (Ludlow), un moustique de creux d'arbre que l'on retrouve dans la moitié ouest de l'Amérique du nord, espèce proche par ses caractéristiques d'*Ae. triseriatus* (Wood et al., 1979). Ils présentent aux femelles d'*Ae. sierrensis* des eaux ayant contenu des œufs, des LHW et des EW de ladite espèce et ils constatent que ces eaux n'attirent pas les femelles lorsque comparées à de l'eau.

Bentley et al. (1976) avec *Ae. triseriatus* constatent suite à leurs expériences, que les facteurs physiques telle que la couleur du substrat attirent plus les femelles de cette espèce que les substances chimiques produites par les larves. Ils constatent également que les solutions réalisées à partir du bois des arbres dans lesquels se développe l'espèce dans la nature ont un effet positif sur les femelles gravides d'*Ae. triseriatus*, comparativement à une LHW de cette espèce.

En 1979, toujours avec la même espèce, Bentley et al. ont réalisé des expériences avec des infusions de feuilles mortes en décomposition provenant du bouleau *Betula papyrifera* (Marsh). Ces expériences ont permis de conclure que les femelles gravides d'*Ae. triseriatus* sont attirées lors de la ponte par ces infusions. La substance responsable de cette attraction a été identifiée comme étant un pentane volatile et soluble. Les auteurs ont démontré que le p-crésol est un composant actif de cette substance. Dans des expériences où ils présentent simultanément aux femelles de l'espèce des sites contenant du p-crésol et de l'eau, ils

constatent que le premier site est beaucoup plus attractif. Ils concluent alors que le p-crésol devrait être un stimulant d'oviposition, son effet s'opère grâce à un mécanisme olfactif chez les femelles d'*Ae. triseriatus*. Pour en arriver à cette conclusion, Bentley et al. (1979) ont testé le p-crésol dans une fiole voilée, comparativement à de l'eau distillée. Dans une telle expérience, seules les vapeurs du p-crésol peuvent être détectées par les femelles et il ne peut y avoir de contact avec la solution. Les résultats de cette expérience montrent que le p-crésol a un effet positif sur les femelles gravides lors de la ponte. Ces résultats démontrent ainsi qu'un contact avec le p-crésol n'est pas nécessaire pour "appeler" les femelles à la ponte. Néanmoins Bentley et al. (1979) soulignent que de tels résultats ne prouvent pas que le p-crésol est un attractif d'oviposition.

Dans leurs récents travaux réalisés avec *Mansonia uniformis* (Theobald) - chez laquelle Laurence et Samarawickrema (1970) soulignent l'importance de la végétation et de la macro-topographie dans la sélection du choix du site de ponte. Ayyachamy et al. (1987) montrent que les femelles gravides de *Ma. uniformis* préfèrent les tests réalisés avec des eaux provenant de leur milieu de croissance, à de l'eau distillée. Ayyachamy et al. (1987) soulignent qu'il y aurait peut-être une concentration optimale des facteurs qui stimuleraient ainsi l'oviposition des femelles, mais que la matière organique que l'on retrouve dans lesdits sites, aurait aussi un rôle important dans cette sélection.

11.2. En conditions axéniques

Ces conditions permettaient d'étudier le comportement des femelles gravides d'*Ae. triseriatus* vis à vis d'une LHW axénique c'est-à-dire, réalisée à partir d'un élevage des populations larvaires débarrassées de toute trace de bactéries.

Les résultats de cette expérience permettent d'énoncer que le rôle actif d'un milieu de culture axénique ayant contenu des larves est tout autant attribuable à ces dernières. Ces résultats permettent d'avancer que les larves du 4ème stade sans aucune trace de microorganismes sont responsables de l'attraction des femelles pour l'oviposition dans une LHW. Dans les mêmes conditions d'axénie, Maire (1985) avec *Ae. stropalpus* tire les mêmes conclusions. Ces résultats permettraient d'avancer que l'effet larve est lié à la production de substances attractives (phéromones d'attraction) par les larves d'*Ae. triseriatus*.

Ce rôle pourrait ainsi être attribué à une ou plusieurs phéromones produites par les larves.

11. Rémanence de l'effet larve.

Cette expérience, analysant la persistance de l'effet larve, dont les résultats n'avaient pas encore été vérifiés chez *Ae. triseriatus* - certainement par le fait même que jusqu'ici l'effet larve n'avait pas été

mis en évidence- montre que l'effet larve persiste après lyophilisation puis remise en eau d'une LHW.

Comme Kalpage et Brust (1974) avec *Ae. atropalpus*, les résultats permettent de conclure à la présence d'une substance soluble dans l'eau, non volatile et rémanente dont l'activité se manifeste encore après assèchement et remise en eau du milieu.

Hudson et McLintock (1967) avec *C. tarsalis*, indiquent la présence d'un composé attractif non volatil et soluble dans l'eau (non filtrable) lors de l'effet larve.

Par contre, Bentley et al. (1976) soulignent que dans le cas des produits d'attraction des larves d'*Ae. triseriatus* et d'*Ae. atropalpus*, les composés attractifs sont volatiles pour une eau ayant contenu des larves, ce sont les odeurs qui émanent de ces sites de ponte contenant des larves qui seraient responsables de la ponte des femelles.

Ces résultats expliqueraient en partie, pourquoi dans la nature, les femelles d'*Ae. triseriatus* effectuent leur ponte sur un substrat humide, en voie d'assèchement, qui avait contenu auparavant des stades immatures. En effet, nous venons de mettre en évidence que les substances attractives provenant des larves persistent dans le site de ponte, même après assèchement de ce dernier, ainsi, les femelles seraient capables de les détecter et la présence de telles substances indiquerait à ces dernières que le site d'où émanent lesdites substances, est propice pour effectuer leur ponte.

III. Age des larves, décelable par les femelles.

Cette expérience nous permettait de savoir s'il y a un âge à partir duquel l'effet larve se manifeste et si oui, lequel ?.

Les résultats obtenus alors, ont permis de conclure que le stade 3 est l'âge à partir duquel l'effet larve est décelable par les femelles gravides.

Soman et Reuben (1970) mènent des expériences avec des LHW réalisées avec des larves du 1^{er} et du 2^{ème} stade d'*Ae. aegypti*, comparativement à de l'eau. Ils constatent que les femelles de l'espèce vont effectuer leur ponte dans les sites contenant les larves.

Dadd et Kleinjan (1974) avec *C. pipiens*, montrent qu'une LHW réalisée avec des larves du 1^{er} stade est choisie par les femelles de cette espèce lors de l'oviposition, comparativement à de l'eau distillée.

Maire (1985) après avoir réalisé des LRW axéniques de différents âges (2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} stade), montre qu'à partir du 2^{ème} stade l'effet larve est décelable chez *Ae. atratipes*; en effet, une telle eau attire de façon beaucoup plus significative les femelles que l'eau distillée. Il montre également que pour des stades de plus en plus avancés, l'effet larve est de plus en plus marqué; ainsi, ces résultats indiquent qu'un 4^{ème} stade larvaire est plus attractif qu'un 3^{ème} stade.

Les différences obtenues au cours de ces travaux par rapport à ceux de Maire avec *Ae. atratipes* s'expliqueraient par le fait que l'effet larve est beaucoup moins marqué chez *Ae. triseriatus* il a d'ailleurs fallu purifier les solutions à tester, pour mettre en évidence les substances à étudier.

Ainsi, chez *Ae. atropalpus*, l'effet larve serait plus facile à mettre en évidence et serait très tôt décelable par les femelles de ladite espèce.

Puisque l'effet larve est beaucoup plus marqué à des stades avancés, on peut supposer que les larves plus grosses, émettraient en quantités plus importantes les phéromones plus décelables par les femelles.

IV. Rôle de la densité des populations larvaires.

Nous voulions déterminer si la densité des larves influence le comportement des femelles et si oui, comment ?

Lors de ces expériences, les résultats montrent qu'à une certaine densité, ici 750 larves par litre, les femelles d'*Ae. triseriatus* choisissent de façon beaucoup plus significative l'eau distillée. Maire (1985) avec une LRW axénique d'*Ae. atropalpus*, indique une répulsion significative des eaux à des densités larvaires de 700 et 900 larves par litre. Ces densités sont considérées exceptionnellement élevées pour la plupart des Culicidae (Maire, 1985).

Reisen et Siddiqui (1978), dans le cas de *C. tritaeniorhynchus* (Giles) ont testé l'effet de la densité en offrant aux femelles de ladite espèce des LHW à différentes densités: 0,1 larve/ ml (faible densité), 3 larves/ ml, 9 larves/ ml (surpopulation larvaire). Ils constatent un meilleur succès des tests ayant contenu des larves en faible densité.

Reisen (1975) effectue des expériences avec des femelles d'*Anopheles*

Il est à remarquer, au sujet d'*Anopheles*, que très peu de travaux ont été réalisés avec les espèces de ce genre, ce qui nous apparaît être une forte carence dans la mesure où ce genre est vecteur d'un bon nombre de maladies, entre autres le paludisme.

Cependant, Reisen (1975) à la suite de ses travaux avance que les femelles d'*Anopheles stephensi* (Liston) sont capables de distinguer des eaux avec de fortes quantités larvaires; les larves en grande quantité libèreraient des composés qui repousseraient les femelles gravides. Par contre, en 1978, Reisen et Siddiqui refont l'expérience précédente et concluent alors que les femelles d'*An. stephensi* ne font aucune distinction concernant la densité larvaire. Ces dernières pondent quelle que soit la densité. Ils n'expliquent pas cette contradiction.

Les facteurs suivants pourraient expliquer les résultats obtenus au cours de nos travaux: on pourrait ainsi envisager la production d'un facteur d'inhibition par les larves lorsqu'elles sont en forte densité, ou alors, penser à un effet d'évitement (deterrent effect) dû à une accumulation de produits d'excrétion lié à la quantité importante de larves dans l'eau. Ainsi, les femelles seraient capables de reconnaître puis d'éviter des sites surpeuplés de larves. Aussi, l'effet de la concentration en phéromones, lorsque trop importante, pourrait repousser les femelles.

Ce comportement de ponte joue un rôle important dans le sens de la "valeur sélective" ou "fitness", qui est mesuré par la qualité de la progéniture en terme de succès, de bon développement, spécialement des descendants, sur plusieurs générations (Smith, 1986). Les femelles seraient alors capables de reconnaître un site adéquat pour leurs larves,

site dans lequel elles pourraient trouver tous les éléments susceptibles de favoriser une progéniture saine. Ainsi, il y aurait un effet régulateur propre aux populations larvaires elles-mêmes, indépendamment des conditions du milieu. Dans les conditions naturelles, un tel mécanisme de régulation pourrait amener les femelles à pondre leurs oeufs dans des sites plus propices.

V. Spécificité de l'effet larve.

Après avoir mis en évidence que les larves d'*Ae. triseriatus* produisent des substances d'oviposition, il s'avèrait important de savoir si ces dernières sont spécifiques.

Les résultats de cette expérience montrent une préférence significative des femelles d'*Ae. triseriatus* pour une LRW axénique réalisée avec des larves de leur propre espèce.

Bentley et al. (1976) à la suite de leurs expérimentations où ils présentaient aux femelles d'*Ae. triseriatus* différents milieux tests: une LHw d'*Ae. triseriatus*, une LHw d'*Ae. atropalpus* et des extraits d'oeufs, concluent que les femelles d'*Ae. triseriatus* préfèrent pondre dans leur propre LHw. Ainsi, ils attribuent cet effet à une substance produite par les larves d'*Ae. triseriatus* qui influencerait l'oviposition chez cette espèce. Toutefois, Maire et Langis (1985) lorsqu'ils expérimentent la spécificité larvaire d'une LHw d'*Ae. communis* (deGeer) et d'*Ae. atropalpus*, notent que

les femelles d'*Ae. communis* ne font pas de différence significative lors de la ponte, entre ces deux substrats.

Cette non-spécificité larvaire pourrait s'expliquer par le fait que les expériences pré-citées ont été réalisées sans prendre les précautions de stérilisation, mais plus encore, sans utiliser de techniques plus "fines", afin de mieux mettre en évidence, les substances à étudier. Ces techniques sont entre autres l'ultra-filtration qui semblerait être nécessaire dans la mise en évidence de la spécificité de l'effet larve; nous pourrions également attribuer cette non-spécificité larvaire lors desdits travaux à la présence de bactéries et de champignons dont les effets positifs ont été démontrés chez les *Culex* et les *Aedes* (Hazard et al., 1967; Ikeshoji et al., 1967, 1975; Maire, 1983, Suleman et Shirin, 1981).

Osgood (1971) teste l'effet d'une LHW de *C. tarsalis* comparativement à de l'eau distillée; il note que lorsque ces deux substrats sont présentés à des femelles de *C. pipiens* et *Ae. aegypti*, les femelles de ces deux espèces vont préférer pondre dans l'eau distillée. Cette observation suggère que les substances d'oviposition devraient être spécifiques à *C. tarsalis*.

Chez les *Culex*, Hudson et McLintock (1967) étudient la spécificité chez *C. tarsalis*. Pour ce faire, ils réalisent des "eaux d'émergence" des nymphes (EW) de différentes espèces: *Culiseta inornata* (Williston), *Ae. aegypti* et *C. pipiens*. Ces tests sont simultanément présentés aux femelles de *C. tarsalis*, comparativement au témoin constitué de EW de ladite espèce. Leurs expériences montrent que les femelles de *C. tarsalis* préfèrent pondre dans des substrats contenant des nymphes de leur propre espèce.

Ils en concluent que les femelles de *C. tarsalis* sont capables de distinguer un site contenant leurs propres larves et par ce fait, de choisir leur site de ponte de manière spécifique

Andréadis (1977), Dadd et Kleinjan (1974), Suleman et Shirin (1981) avec des espèces du genre *Culex*, s'accordent à dire que les eaux ayant contenu des larves ou des nymphes de différentes espèces, attirent plus les femelles de la même espèce.

Dans nos expériences où les LRW d'*Ae. triseriatus* et d'*Ae. atropalpus* sont axéniques, les résultats ont mis en évidence une spécificité de l'effet larve chez l'espèce étudiée. Ainsi, on pourrait conclure à la spécificité des substances produites par les larves d'*Ae. triseriatus*

Cette spécificité s'expliquerait puisque les deux espèces étudiées choisissent des habitats différents dans la nature: creux d'arbre pour *Ae. triseriatus* et creux de rocher pour *Ae. atropalpus*. Ainsi, elle jouerait un rôle important dans la sélection de l'habitat de l'espèce dont les caractéristiques influencent considérablement le choix du biotope pour la ponte, elle indiquerait aux femelles des sites de ponte favorables au bon développement de leurs propres larves.

CHAPITRE V

CONCLUSIONS

Les résultats de ces travaux ont permis de conclure que les larves d'*Ae. triseriatus* agissent comme attracteurs ou stimulants d'oviposition en produisant des phéromones. Cette production est un phénomène écologiquement intéressant; en effet, elle donne à la femelle gravide l'assurance qu'un milieu ayant contenu des larves est adéquat et garantit la survie de sa progéniture dans de bonnes conditions (Maire, 1983). Ces phéromones produites par les larves semblent avoir un effet régulateur des populations larvaires dans un site donné; et leur spécificité pourrait éventuellement donner aux femelles l'indication de la présence d'une espèce compétitive. Nous avons montré que ces phéromones sont solubles dans l'eau et non volatiles. Cette persistance de l'effet larve dans un milieu donné expliquerait pourquoi les femelles gravides reviennent à des sites en voie d'assèchement, ayant lorsqu'ils étaient submergés, des stades immatures; les phéromones, puisque solubles, demeurent dans les milieux mêmes asséchés et leur présence est décelée par les femelles. Puisque ces substances sont relativement stables, leur concentration devrait augmenter le succès des générations d'*Ae. triseriatus* dont les femelles retournent à ces mêmes sites pour pondre.

Quoique nous avons démontré que l'effet larve est spécifique chez *Ae. triseriatus*, en se rappelant de l'écologie particulière de l'espèce, il faut s'attendre à ce que les facteurs environnementaux interviennent également

dans le choix du biotope. En effet, le *p*-crésol qui est un produit de dégradation provenant des types de creux d'arbre dans lesquels *Ae. triseriatus* s'installe s'est avéré être un important facteur d'oviposition. Il faut s'attendre à ce que les cavités d'arbre ou celles des pneus soient propices au bon développement des stades immatures et que ces biotopes aient des propriétés suffisamment sélectives pour que l'espèce ne se retrouve que dans ces types de milieux.

L'effet larve ayant été difficile à mettre en évidence, il y a une forte possibilité que le choix final du site de ponte résulte d'une interaction entre les facteurs physiques et chimiques chez *Ae. triseriatus*.

Ces résultats ont permis de différencier les genres de moustique chez lesquels la sélection du site de ponte par les femelles va être influencée par les stades immatures, bien que difficile à mettre en évidence par les méthodes courantes (LHW sans ultra-filtration, par exemple) (*Ae. triseriatus*) et ceux chez qui l'oviposition est directement influencée par les stades immatures (les *Culex* dont le choix du site de ponte se fait à partir des oeufs pondus à la surface de l'eau par les femelles, oeufs qui produisent une phéromone d'oviposition).

Il serait souhaitable de faire des recherches afin de déterminer si c'est la solution des produits de dégradation du bois dans lequel vit *Ae. triseriatus* ou une LHW, qui est le substrat le plus actif lors de l'oviposition. Les conclusions de telles recherches et celles notamment qui permettraient de synthétiser et d'identifier les phéromones produites par les larves d'*Ae. triseriatus* seraient indispensables pour orienter une lutte efficace de l'espèce dans la nature.

REFERENCES

- Ahmadi, A. et G. A. H. McClelland. 1983. Oviposition attractants of the western treehole mosquito *Aedes sierrensis*. Mosq. News. 43: 343-345.
- Andréadis, T. G. 1977. An oviposition attractant of pupal origin in *Culex salinarius*. Mosq. News. 37 (3): 53-56.
- Ayyachamy, B. Daniel, Cheriyan Thomas et R. S. Prasad. 1987. An ovipositional attractant isolated from natural breeding water of *Mansonia uniformis*. Department of Zoology, University of Kerala, Kariavattam, Trivandrum 695 581, India. Reprinted from Current Science, 56 (9): 433-435.
- Bellonck, S., A. Aubin, A. Maire, J. Boisvert, R. Gagnon, C. Th'ing, C. Trudel et H. Artsob. 1983. Arbovirus studies in the Trois-Rivieres area, province of Quebec, Canada. Mosq. News. 43 (4): 426-431.
- Bentley, M. D., I. N. McDaniel, M. Yatagai, H.-P. Lee et R. Maynard. 1976. Studies of *Aedes triseriatus* oviposition attractants produced by larvae of *Aedes atropalpus* (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol. 13 (1): 112-115.

- Bentley, M. D., I. N. McDaniel, M. Yatagai, H.-P. Lee et R. Maynard. 1979. p-cresol: an oviposition attractant of *Aedes triseriatus*. Environ. Entomol. 8: 207-209.
- Bruno, D. W. et B. R. Laurence. 1979. The influence of the apical droplet of *Culex* egg rafts on oviposition of *Culex pipiens fatigans* (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol. 16: 300-305.
- Craig, G. B. Jr et W. A. Hickey. 1967. Genetics of *Aedes aegypti*. In "Genetics of Insect Vectors of Disease". (J. W. Wright et R. Pal, eds). Am. Elsevier, New York. 67-131.
- Dadd, R. H. et J. E. Kleinjan. 1974. Autophagostimulant from *Culex pipiens* larvae: Distinction from mosquito larvae factors. Environ. Entomol. 3: 21-28.
- Fauvel, M., H. Artsob, C. H. Calisher, L. Davignon, R. Skvorc-Ranko et S. Belloncik. 1980. California group virus encephalitis in three children from Quebec: clinical and serologic findings. Can. Med. Ass. J. 122: 60-64.
- Fauvel, M., A. Chagnon, R. Skvorc-Ranko, L. Frappier-Davignon, N. Moussette, J. P. Breton et H. Artsob. 1981. California encephalitis. Quebec. A case report. Canada diseases weekly report (Health and Welfare Canada). 7 (39): 194-196.

- Grimstad, P. R., G. B. Craig, JR., Q. E. Ross et T. M. Yuill. 1977. *Aedes triseriatus* and La Crosse virus: geographic variation in vector susceptibility and ability to transmit. Am. Soc. of Trop. Med. and Hyg. 26 (5): 990-996.
- Hazard, E. I., M. S. Mayer et K. E. Savage. 1967. Attraction and oviposition stimulation of gravid female mosquitoes by bacteria isolated from hay infusions. Mosq. News. 27: 133-136.
- Hudson, A. et J. McIntock. 1967. A chemical factor that stimulates oviposition by *Culex tarsalis* (Coquillett) (Diptera: Culicidae). Anim. Behav. 15: 336-341.
- Hwang, Y. -S., Mir S. Mulla, John D. Chaney, Guo-Giang Lin et Hai-Jian Xu. 1986. Attractancy and species specificity of 6 acetoxyl-5-hexadecanolide, a mosquito oviposition attractant pheromone. Journal of Chemical Ecology. 13 (2): 245-252.
- Ichimori, K. 1981. Observations on the oviposition behavior of *Aedes triseriatus*. Marks in laboratory. Jap. J. Sanit. Zool. 32 (1): 84-85.
- Ikeshoji, T., K. Saito et A. Yano. 1975. Bacterial production on the ovipositional attractants for mosquitoes on fatty acid substrates. Appl. Entomol. 10: 239-242.

- Ikeshoji, T., T. Umino et S. Hirokoso. 1967. Studies on mosquito attractants and stimulants. Part IV. An agent producing stimulative effects for oviposition *Culex pipiens fatigans* in field water and the stimulative effects of various chemicals. Jap. J. Exp. Med. 37 (1): 61-69.
- Jenkins, D. W. et S. J. Carpenter. 1946. Tree hole breeding mosquitoes of Nearctic North America. Ecol. Monographs. 16: 33-47.
- Kalpage, K. S. P. et R. A. Brust. 1974. Oviposition attractant produced by immature *Aedes atropalpus*. Environ. Entomol. 2: 729-730.
- Lang, C. A., Baasch, K. J. et Storey, R. S. 1972. Growth, composition and longevity of the axenic mosquito (Diptera: Culicidae). J. Nutr. 102: 1057-1066.
- Laurence, B. R. et W. A. Samarawickrema. 1970. Aggregation by oviposition *Ansonia* mosquitoes. J. Med. Entomol. 7: 594-600.
- Laurence, B. R. et Pickett, J. A. 1982. Erythro-6-acetoxy-5-hexadecanolide, the major component of a mosquito oviposition attractant pheromone. J. Chem. Soc., Chem. Commun. 59-60.

- Madigosky, S. R., Pinger, R. R. et H. F. Siewert. 1980. Effects of pH on oviposition preference and larval development of mosquito species *Aedes triseriatus*. Proceeding of Indiana Academy of Science-Cisti. 236-237.
- Maire, A. 1982. Selectivity by snow-melt mosquito for larval habitats in Quebec subarctic string bogs. Mosq. News. 42 (2): 236-243.
- Maire, A. 1983. Sélectivité des femelles de moustiques (Culicidae) pour leurs sites d'oviposition: état de la question. Rev. Can. Biol. Exptl. 42 (2): 235-241.
- Maire, A. 1984. An analysis of the ovipositional response of *Aedes atropalpus* to experimental oviposition waters. Mosq. News. 44 (3): 325-329.
- Maire, A. 1985. Effet of axenic larvae on the oviposition site selection by *Aedes atropalpus*. J. Am. Mosq. Control Assoc. 1 (3): 320-323.
- Maire, A. et A. Aubin. 1980. Les moustiques du Québec (Diptera: Culicidae). Essai de synthèse écologique. Mémoires Soc. Entomol. Québec. 6: 1-107.
- Maire, A. et R. Langis. 1985. Oviposition responses of *Aedes communis* (Ochlerotatus) (Diptera: Culicidae) to Larval Holding Water. J. Med. Entomol. 22 (1): 111-112.

- McDaniel, I. N., M. D. Bentley, H.-P. Lee et M. Yatagai. 1976. Effects of color and larval produced oviposition attractants on oviposition of *Aedes triseriatus*. Environ. Entomol. 5 (3): 553-556.
- Munstermann, L. E. et L. M. Wasmuth. 1985. *Aedes triseriatus*. Hand book of Insect Rearing. Pritam Singh et R. F. Moore (Editors). Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam. 2: 15-24.
- Osgood, C. E. 1971. An oviposition pheromone associated with egg rafts of *Culex tarsalis*. J. Econ. Entomol. 64: 1038-1041.
- Reisen, W. K. 1975. Effects of selected antibiotics on larval development of *Anopheles stephensi* (Liston) (Diptera: Culicidae). Pakistan. J. Zool. 7: 113-115.
- Reisen, W. K. et T. F. Siddiqui. 1978. The influence of conspecific immature on the oviposition mosquitoes *Anopheles stephensi* and *Culex tritaeniorhynchus*. Pakistan. J. Zool. 10: 31-41.
- Smith, R. L. 1986. Elements of ecology. Second edition. Harper et Row, Publishers, New York. 677 pages.

- Soman, R. S. et Reuben. 1970. Studies on the preference shown by ovipositing females of *Aedes aegypti* for water containing immature stages of same species. J. Med. Entomol. 7 (4): 485-489.
- Suleman, M. et M. Shirin. 1981. Laboratory studies on oviposition behavior of *Culex quinquefasciatus* (Say) (diptera: Culicidae): choice of oviposition medium and oviposition cycle. Bull. Entomol. Res. 71: 361-369.
- Thompson, W. H., D. O. Trainer, V. A. Allen et J. B. Hale. 1963. The exposure of wild life workers in Wisconsin to ten zoonotic diseases. Trans. North Am. Wildl. Nat. Resources. Conf. 28: 215-225.
- Thompson, W. H., B. Kalfayan et R. O. Anslow. 1965. Isolation of California encephalitis group virus from a fatal human illness. Am. J. Epidemiol. 38: 245-253.
- Thompson, W. H., R. O. Anslow, R. P. Hanson et G. R. Defoliart. 1972. La Crosse virus isolations from mosquitoes in Wisconsin, 1964- 1968. Am. J. Trop. Med. Hyg. 21: 90-96.
- Trimble, R. M. et W. G. Wellington. 1980. Oviposition stimulant associated with fourth instar larvae of *Aedes taeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol. 17: 509-514.

- Watts, D. M., C. D. Morris, R. E. Wright, G. R. Defoliart, R. P. Hanson. 1972. Transmission of LaCrosse virus (California encephalitis group) by the mosquito *Aedes triseriatus*. J. Med. Entomol. 9: 125.
- Wilton, D. P. 1968. Oviposition site selection by the tree-hole mosquito, *Aedes triseriatus*(Say). J. Med. Entomol. 5: 189-194.
- Wood, D. M., P. T. Dang et R. A. Ellis. 1979. The insects and arachnids of Canada. Diptera: Culicidae. Res. Branch. Agric. Canada, Ottawa, Publ. 1686: 390 pages.
- Zavortink, T. J. 1972. Mosquito studies (Diptera: Culicidae). XXVIII. The new world species formerly placed in *Aedes* (Finlaya). Contr. Amer. Entomol. Inst. 8: 1-206.